

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 20520061151943

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

姜黄素类似物的合成及其活性研究

Synthesis of Curcumin analogues and study of their activities

张亚莉

指导教师姓名: 吴 振 教 授

许鹏翔 副教授

专 业 名 称: 有 机 化 学

论文提交日期: 2 0 0 9 年 8 月

论文答辩时间: 2 0 0 9 年 9 月

学位授予日期: 2 0 0 9 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2009 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

摘 要

姜黄素 (curcumin) 是从姜科姜黄属植物姜黄根茎中提取的一种酚性色素, 其应用广泛, 主要用做色素、食品添加剂及调味品等。姜黄素具有抗肿瘤、抗突变、抗炎、抗氧化、保肝等药理活性, 并具有毒性低、生物利用度高和资源丰富等优点, 能够诱导细胞周期停滞和细胞凋亡, 是一种很有发展前景的抗肿瘤药。本论文以香草醛等为原料, 合成了一系列姜黄素的类似物, 采用红外、核磁等波谱学方法进行表征, 并用人体肺癌细胞A549进行体外活性筛选, 研究化合物的抗肿瘤活性规律, 阐述姜黄素类化合物的抗肿瘤构效关系, 为抗肿瘤药物设计, 提供理论和实验依据。

以姜黄素及其代谢产物为母核, 本文设计合成几个与 α,β -不饱和酮结构相关的化合物, THC、Dehydrozingerone和Vanilyacetone等, 进一步研究了具有 α,β -不饱和酮结构的化合物发挥抗肿瘤活性的结构规律及对分子机制的影响, 探索化学小分子对细胞凋亡过程的调控规律, 高效准确地阐述化合物活性本质, 为新药开发奠定基础。体外抗肿瘤实验结果表明, 化合物的抗肿瘤活性产生于 α,β -不饱和酮结构, 并与其数目、结构有密切关系, 也直接影响其抗肿瘤活性能力大小。活性顺序为Curcumin>Dehydrozingerone>THC>Vanilyacetone, 且Curcumin的活性要远远大于其他化合物, 进一步证实 α,β -不饱和酮结构在姜黄素抗肿瘤活性中起着非常重要的作用。与NAC的反应及Western blot实验结果表明, α,β -不饱和酮结构是通过下调Bcl-2和上调Bax线粒体蛋白、促进细胞色素c释放, 并通过JNK激酶上调CHOP, 达到诱导肿瘤细胞凋亡的目的。 α,β -不饱和酮做为Michael adduct的受体, 通过线粒体途径和内质网应急反应途径调控其诱导细胞凋亡能力, 发挥抗肿瘤作用。

关键词: 姜黄素 类似物 活性 Michael adduct 凋亡

厦门大学博硕士论文摘要库

Abstract

Curcumin is a well-known pigment derived from the food flavoring turmeric (*Curcuma longa*). It is reported that curcumin possesses anti-tumor, anti-mutagenic, anti-inflammatory, anti-oxidation and other pharmacological activities. In the present study, we used vanillin as the starting material, synthesized a series of curcumin analogues. The structure of the products were identified by NMR and IR. We investigated the anti-tumor activity of these compounds by MTT assay, and discussed the relationship between the structure of these compounds and their anti-tumor activities.

According to the structure of curcumin and its metabolites, we designed and synthesized some compounds containing the structure of α,β -unsaturated ketone, such as THC, Dehydrozingerone and Vanilyacetone, and studied the structure-activity relationship and the mechanism of inducing tumor cell apoptosis. The results showed that the structure of α,β -unsaturated ketone contribute to the anti-tumor activity of the compounds, and the activities of apoptosis were in an order of Curcumin>Dehydrozingerone>THC>Vanilyacetone. These results indicated that α,β -unsaturated ketone structure plays a crucial role in mediating tumor cell apoptosis. It was found that the α,β -unsaturated ketone structure down-regulated Bcl-2 expression level, activated of Bax, and promoted the release of cytochrome *c*, as well as activate of JNK mediated up-regulation of CHOP, which in the end lead to tumor cell apoptosis. The α,β -unsaturated ketone, as a Michael acceptor, induced cell apoptosis through the mitochondrial pathway and the endoplasmic reticulum stress mechanism in A549 cells.

Key words: Curcumin; analogs; activity; Michael adduct; apoptosis

厦门大学博硕士论文摘要库

缩 略 语

符号	英文含义	中文含义
OD	optical density	光密度
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide	四甲基偶氮唑盐
IC ₅₀	half-maximal inhibitory concentration	半数抑制浓度
DMSO	Dimethyl Sulfoxide	二甲亚砜
PBS	Phosphate-buffered saline	磷酸缓冲液
SDS	Sodium dodecyl sulfate	十二烷基磺酸钠
PMSF	Phenylmethanesulfonyl fluoride	苯甲基磺酰氟
NAC	N-acetyl-L-cysteine	N-乙酰-L-半胱氨酸
P-TsOH	p-toluenesulfonic acid	对甲基苯磺酸
JNK	c-Jun N-terminal Kinase	氨基末端激酶
CHOP	C/EBP Homology Protein	C/EBP 同源蛋白
CYC	Cytochrome C	细胞色素 C

厦门大学博硕士论文摘要库

目 录

摘要.....	I
Abstract.....	III
缩略语	V
第一章 综述.....	1
1.1 引言	1
1.2 临床使用及正在开发的抗肿瘤药物	2
1.2.1 直接作用于DNA的药物	2
1.2.2 干扰DNA合成的药物	6
1.2.3 抗有丝分裂的药物	9
1.2.4 抗肿瘤药物的新靶点	10
1.3 天然抗肿瘤药物的研究	11
1.4 姜黄素的研究进展	16
1.4.1 姜黄素的药理活性	16
1.4.2 姜黄素的作用机制	18
参考文献	24
第二章 合成实验	26
2.1 引言	26
2.2 实验部分	26
2.2.1 实验试剂与仪器	26
2.2.2 实验方法	27
2.3 小结与讨论	31
参考文献	32
第三章 体外活性实验	33
3.1 引言	33

3.2 实验部分	33
3.2.1 实验材料	33
3.2.2 细胞培养	34
3.2.3 体外抗肿瘤活性	35
3.2.4 统计学处理	36
3.2.5 实验结果	36
3.3 小结与讨论	42
参考文献	44
 第四章 姜黄素及其类似物对DNA切割活性的研究	45
4.1 引言	45
4.1.1 DNA概述	45
4.1.2 DNA切割简介	46
4.2 实验部分	47
4.2.1 实验试剂与仪器	47
4.2.2 实验方法	47
4.2.3 实验结果	48
4.3 小结与讨论	51
参考文献	53
 第五章 姜黄素诱导A549 细胞凋亡机制的研究	55
5.1 引言	55
5.1.1 Bcl-2 家族对细胞凋亡的影响	55
5.1.2 p53 与细胞凋亡	57
5.1.3 MAPKs家族与细胞凋亡	57
5.1.4 Caspase蛋白酶与细胞凋亡	58
5.2 实验部分	59
5.2.1 实验试剂与仪器	59
5.2.2 姜黄素及其类似物的体外抗肿瘤活性比较	61
5.2.3 油水分配系数logP值的测定	62
5.2.4 N-乙酰-L-半胱氨酸 (NAC) 对姜黄素及其类似物的活性影响	62

5.2.5 Curcumin及Dehydrozingerone与NAC的加成反应·····	62
5.2.6 SDS-PAGE蛋白电泳实验·····	62
5.2.7 统计学处理·····	65
5.2.8 实验结果·····	65
5.3 小结与讨论·····	74
参考文献·····	75
硕士期间发表的学术论文·····	78
致谢·····	79

厦门大学博硕士论文摘要库

Contents

Abstract(Chinese)	I
Abstract(English)	III
Abbreviations	V
Chapter 1 Review	1
1.1Introduction	1
1.2 Clinical use and being developed anti-cancer drugs	2
1.2.1 Drugs effecting directly on DNA.....	2
1.2.2 Drugs interfering with DNA synthesis.....	6
1.2.3 Drugs of anti-division.....	9
1.2.4 New targets for anti-cancer drugs.....	10
1.3 Natural anti-cancer drugs research	11
1.4 Progress of Curcumin research	16
1.4.1 Pharmacological activities of Curcumin.....	16
1.4.2 Mechanisms of Curcumin.....	18
References	24
Chapter 2 Synthesis experiments	26
2.1 Introduction	26
2.2 Experiments	26
2.2.1 Reagents and equipments	26
2.2.2 Methods.....	27
2.3 Summary and discussion	31
References	32
Chapter 3 Anti-tumor activity in vitro	33
3.1 Introduction	33

3.2 Experiments	33
3.2.1 Reagents and equipments	33
3.2.2 Cell culture	34
3.2.3 Anti-tumor activity in vitro	35
3.2.4 Statistical processing	36
3.2.5 Results	36
3.3 Summary and discussion	42
References	44

Chapter 4 The study of Curcumin and its analogues's DNA cleavage

activity	45
4.1 Introduction	45
4.1.1 DNA overview	45
4.1.2 Introduction of DNA cleavage	46
4.2 Experiments	47
4.2.1 Reagents and equipments	47
4.2.2 Methods	47
4.2.3 Results	48
4.3 Summary and discussion	51
References	53

Chapter 5 The mechanisms of Curcumin-induced A549 cell apoptosis

.....	55
5.1 Introduction	55
5.1.1 Bcl-2 family and cell apoptosis	55
5.1.2 p53 and cell apoptosis	57
5.1.3 MAPKs family and cell apoptosis	57
5.1.4 Caspase protease and cell apoptosis	58
5.2 Experiments	59
5.2.1 Reagents and equipments	59
5.2.2 Curcumin and its analogues in vitro anti-tumor activity	61

5.2.3 Determination of oil-water distribution(logP)	62
5.2.4 Affection of NAC on the activity of Curcumin and its analogs	62
5.2.5 The addition reaction of Curcumin and Dehydrozingerone with NAC	62
5.2.6 SDS-PAGE western blots	62
5.2.7 Statistical processing	65
5.2.8 Results	65
5.3 Summary and discussion	74
References	75
Publication During Master Degree Study	78
Acknowledgments	79

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库